

Diversidad microbiana del río Tinto

Autor: Rinardo Belmar, Víctor Alfonso (Graduado en Biología, Máster en Microbiología, Alumno Predoctoral).

Público: Microbiólogos. **Materia:** Microbiología. **Idioma:** Español.

Título: Diversidad microbiana del río Tinto.

Resumen

Río Tinto (Huelva) es uno de los ambientes ácidos terrestres que suscita mayor interés científico. El río transcurre a través de la Faja Pirítica Ibérica, uno de los mayores depósitos de sulfuros metálicos de la corteza terrestre. Sus aguas en contacto con la mineralogía y la actividad microbiana son causantes de su extrema acidez. Diferentes estudios de ecología microbiana han permitido determinar en gran medida la diversidad de extremófilos de este ambiente extremo. En este artículo se presenta de forma sintética esta diversidad.

Palabras clave: Acidófilo, diversidad microbiana, extremófilo, río Tinto.

Title: Microbial diversity of the Tinto river.

Abstract

Tinto river (Huelva) is one of the acidic environments that arouses the greatest scientific interest. The river runs through the Iberian Pyrite Belt, one of the largest deposits of metal sulfides in the earth's crust. Its waters in contact with mineralogy and microbial activity are the cause of its extreme acidity. Different studies of microbial ecology have allowed us to determine to a large extent the diversity of extremophiles of this extreme environment. In this article, a presentation of this diversity is synthetically presented.

Keywords: Acidophilus, extremophile, microbial diversity, Tinto river.

Recibido 2018-06-07; Aceptado 2018-07-03; Publicado 2018-07-25; Código PD: 097023

Río Tinto constituye uno de los mayores ambientes ácidos terrestres conocidos. Con origen en Peña del Hierro, los flujos del río transcurren a través de la Faja Pirítica Ibérica (IPB, por sus siglas en inglés) por más de 92 km hasta su desembocadura en el océano Atlántico, en Huelva (Amils et al., 2004). La IPB es conocida por ser uno de los mayores depósitos de sulfuros metálicos de la corteza terrestre. Presenta más de 250 km de largo y una anchura que oscila entre 25 y 70 km. Se trata de una formación geológica de origen hidrotermal que se formó durante la orogenia Hercínica. Posteriormente, durante una etapa del Terciario tardío se elevó y quedó expuesta a la erosión (Fernández-Remolar, Morris, Gruener, Amils y Knoll, 2005).

Dado que la piritita constituye el sulfuro metálico más abundante del Tinto, el Fe^{3+} es el oxidante predominante ($\sim 2\text{g L}^{-1}$), el cual genera un potencial redox altamente oxidante ($\sim 400\text{ mV}$) (Sánchez-Andrea, Rodríguez, Amils y Sanz, 2011). Además, el Fe^{3+} dota a las aguas de su característico color rojizo. Por otro lado, el H_2SO_4 es responsable de la alta concentración de SO_4^{2-} en sus aguas ($\sim 6\text{g L}^{-1}$) y de la extrema acidez ($\text{pH} \sim 2,3$). Gracias a la capacidad tamponadora de pKa del Fe^{3+} se mantiene el pH ácido constante a lo largo del cauce. La geomicrobiología del Tinto es capaz de proveer suficiente Fe^{3+} para mantener el pH constante a pesar de las diluciones producidas por diferentes aportaciones naturales de agua propias del clima mediterráneo (Amils et al., 2004). Este pH favorece la disolución de los minerales metálicos y el consiguiente aumento de la concentración de metales pesados disueltos tales como Fe, Cu, Zn, Cr, As, entre otros (Fernández-Remolar, Rodríguez, Gómez y Amils, 2003).

Pese a las condiciones extremas del Tinto, este exhibe un nivel inesperado de diversidad microbiana. El uso de técnicas de biología molecular, como son la electroforesis en gel en gradiente desnaturante (DGGE por sus siglas en inglés), la amplificación de los genes de los ARNr 16-18S y su secuenciación, así como el uso de la hibridación con sondas específicas fluorescentes (FISH por sus siglas en inglés), complementadas con las técnicas clásicas de aislamiento y caracterización fenotípica de microorganismos, han permitido identificar los elementos más representativos del río Tinto (Amils et al., 2004).

Los quimiolitotótrofos y los protistas fotosintéticos son los productores primarios del ecosistema. Aproximadamente el 80% de la biomasa procariótica en la columna de agua corresponde a tan sólo tres bacterias quimiolitotrofas relacionadas con el ciclo del hierro: *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidiphilium spp.* (Malki et al., 2006). *A. ferrooxidans* es una bacteria acidófila anaerobia facultativa y quimiolitótrofa altamente versátil capaz de oxidar hierro y azufre en condiciones aerobias y de reducir hierro oxidando azufre en condiciones anaerobias (Nuñez et al., 2016). Por su parte, *L. ferrooxidans* se trata de una bacteria acidófila aerobia estricta y quimiolitótrofa que oxida hierro y parece ser capaz de fijar N_2 (García-Moyano, González-Toril, Moreno-Paz, Parro y Amils, 2008). Por último, las especies del género

Acidiphilium son anaerobias facultativas heterótrofas, capaces de usar el O_2 como aceptor final de electrones o bien, el Fe^{3+} en condiciones de microaerobiosis (González-Toril, Llobet-Brossa, Casamayor, Amann, y Amils, 2003; López-Archilla, Marín, y Amils, 2001). Estas tres bacterias aparecen frecuentemente asociadas formando unas estructuras filamentosas macroscópicas de color marrón, denominadas serpentinas o *streamers*. Estas se hayan inmersas en una matriz de exopolisacáridos y partículas minerales (García-Moyano et al., 2007).

Con menor abundancia se han identificado arqueas oxidadoras de hierro como *Ferroplasma spp.* o *Thermoplasma acidophilum*. También han sido identificadas otras bacterias reductoras de hierro, como *Ferrimicrobium spp.*, *Acidomicrobium spp.*, *Acidisphaera spp.*, *Metallibacterium spp.* y *Acidobacterium spp.*, además de otras oxidadoras de hierro como *Ferrovum spp.* La baja abundancia de estos microorganismos sugiere que juegan un papel minoritario en la ecología del Tinto (García-Moyano, et al., 2007; García-Moyano, González-Toril, Aguilera y Amils, 2012; González-Toril et al., 2003; González-Toril et al., 2010).

Debido al rápido flujo de las aguas del río, las características de la columna de agua son usualmente homogéneas y las comunidades de quimiolitotrofos son similares en diferentes puntos de muestreo. En contraste, el estudio reciente de los sedimentos del río ha mostrado la existencia de una estructura estratificada que permite el funcionamiento de diferentes metabolismos asociados a diferentes alturas y que varían en función del punto de muestreo (García-Moyano et al., 2012; Sánchez-Andrea et al., 2011). Se ha podido mostrar la presencia de una mayor biodiversidad en los sedimentos anaeróbicos en comparación con muestras de la columna de agua tomadas en el mismo punto de muestreo (García-Moyano et al., 2012). En aquellos puntos donde el pH y el potencial *redox* son similares a la columna de agua (pH 2,5 y +400 mV), los organismos predominantes se identificaron como bacterias reductoras de hierro de los géneros *Acidithiobacillus* y *Acidiphilium* probablemente relacionado con la alta solubilidad del hierro a bajo pH. En cambio, a mayor pH (4,2-6,2) y condiciones *redox* más reductoras (-210 mV), dominaban bacterias sulfatoreductoras de los géneros *Syntrophobacter*, *Desulfosporosinus* y *Desulfurella* (Sánchez-Andrea et al., 2011).

Otros estudios recientes han identificado microorganismos quimiolitotróficos subsuperficiales en el Tinto. Mediante la perforación, la recuperación de muestras y aplicación de diferentes métodos de estudio en ecología microbiana, el proyecto MARTE (*Mars Analog Research And Technology Experiment*) en colaboración de la *National Aeronautics and Space Administration* (NASA) y el Centro de Astrobiología (CAB), identificó diferentes metabolismos asociados a la IPB, principalmente oxidadores de hierro (Amils et al., 2014; Puente-Sánchez et al., 2014).

La presencia de microorganismos oxidadores de azufre y sulfatoreductores metabólicamente activos, sugiere la operación de un ciclo del azufre efectivo en el Tinto. Además, la identificación de procariotas oxidadores y reductores de hierro, capaces de metabolizar tanto en condiciones aerobias como anaerobias, subraya la existencia de un ciclo del hierro operativo (González-Toril et al., 2003; Sánchez-Andrea et al., 2011).

Por otro lado, los eucariotas están ampliamente representados en las aguas del Tinto. El 65% de la biomasa total pertenece a los protistas fotosintéticos. Las algas clorófitas constituyen el grupo mayoritario. Están respresentadas por diferentes géneros como *Clamydomonas*, *Chlorella*, *Klebsormidium*, *Zignema*, *Dunaliella*, etc. Rodofitas de los géneros *Galdieria* y *Cyanidium* también han sido identificados. También han sido observadas Euglenas y Diatomeas pennadas de los géneros *Pinnularia*, *Nitzschia* y *Cyclotella*. Además, durante los meses secos, se han aislado algas filamentosas de los géneros *Zygnemopsis* y *Klebsormidium* (López-Archilla et al., 2001; Aguilera et al., 2007).

Los principales consumidores del sistema son los protistas heterótrofos. Se han identificado, mediante métodos fenotípicos, amebas de la clase *Lobosea* como *Acanthamoeba*. Diversos flagelados mixotrofos del género *Bodo* y *Ochromonas*, ciliados del género *Oxytrichia*, y heliozoos del género *Actinophrys* han sido observados asociados a biopelículas (López-Archilla et al., 2001; López-Archilla, González, Terrón y Amils, 2005).

Asociados a biopelículas, existe una importante diversidad de hongos acidófilos, incluyendo levaduras como los hongos negros y hongos filamentosos, como los de la clase *Hyphomycetes*, entre otros (Amaral-Zettler et al., 2002; López-Archilla et al., 2001).

No sólo se desarrollan eucariotas unicelulares en las condiciones extremas de río Tinto. Diferentes plantas se pueden encontrar creciendo en sus suelos ácidos, como es el caso de la hierba de la familia *Poaceae*, *Imperata cylindrica* o un rotífero bdeloide, el único animal encontrado en las aguas del Tinto (Amaral-Zettler et al., 2002; Rodríguez, Menéndez, Tornero, Amils y de la Fuente, 2005).

La diversidad eucariótica del sistema es superior a la procariótica. Este hecho puede responder al mayor acceso al hierro en un medio ácido. A pH neutro, el hierro es insoluble y constituye un elemento limitante para el crecimiento de los microorganismos (Ehrlich, 2002).

Para mantener su homeostasis del pH, así como evitar la toxicidad por metales, los organismos acidófilos del Tinto han desarrollado numerosas estrategias celulares (Krulwich, Sachs y Padan, 2011). El uso de transportadores que catalizan el trasiego de H^+ o metales del citoplasma al medio extracelular, constituye un ejemplo común de estos mecanismos (Navarro, Bernath y Jerez, 2013).

Bibliografía

- Aguilera, A., Zetter, E., Gómez, F., Amaral-Zettler, L., Rodríguez, N. y Amils, R. (2007). Distribution and seasonal variability in the benthic eukaryotic community of Río Tinto (SW, Spain), an acidic, high metal extreme environment. *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 531–546.
- Amaral-Zettler, L. A., Gómez, F., Zettler, E., Keenan, B. G., Amils, R. y Sogin, M. L. (2002). Eukaryotic diversity in Spain's River of Fire. *Nature*, 417, 137.
- Amils, R., Fernández-Remolar, D., Parro, V., Rodríguez-Manfredi, J. A., Oggerin, M., Sánchez-Román, M., López, F. J., Fernández-Rodríguez, J. P., Puente-Sánchez, F., Briones, C., Prieto-Ballesteros, O., Tornos, F., Gómez, F., García-Villadangos, M., Rodríguez, N., Omoregie, E., Timmis, K., Arce, A., Sanz, J. L. y Gómez-Ortiz, D. (2014). Río Tinto: A Geochemical and mineralogical terrestrial analogue of Mars. *Life*, 4, 511-534.
- Amils, R., Gómez, F., González-Toril, E., Aguilera, A., Rodríguez, N. y Fernández-Remolar, D. (2004). Extremofilia astrobiológica: El caso del río Tinto. *SEA*, 12, 19-26.
- Fernández-Remolar, D. C., Morris, R. V., Gruener, J. E., Amils, R. y Knoll, A. H. (2005). The Río Tinto basin, Spain: mineralogy, sedimentary geobiology, and implications for interpretation of outcrop rocks at *Meridiani Planum*, Mars. *Earth and Planetary Science Letters*, 240, 149-167.
- Fernández-Remolar, D., Rodríguez, N., Gómez, F. y Amils, R. (2003). The geological record of an acidic environment driven by iron hydrochemistry: the Tinto river system. *Journal of Geophysical Research*, 108, 1-15.
- García-Moyano, A., González-Toril, E., Aguilera, A. y Amils, R. (2007). Prokaryotic community composition and ecology of macroscopic floating filaments from an extreme acidic environment, Río Tinto, (SW, Spain). *Systematic and Applied Microbiology*, 30, 601–614.
- García-Moyano, A., González-Toril, E., Aguilera, A. y Amils, R. (2012). Comparative microbial ecology study of the sediments and the water column of the Río Tinto, an extreme acidic environment. *FEMS Microbiology Ecology*, 81, 303–314.
- García-Moyano, A., González-Toril, E., Moreno-Paz, M., Parro, V. y Amils, R. (2008). Evaluation of *Leptospirillum* spp. in the Río Tinto, a model of interest to biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 94, 155-161.
- González-Toril, E., Llobet-Brossa, E., Casamayor, E. O., Amann, R. y Amils, R. (2003). Environment, the Tinto river microbial ecology of an extreme acidic. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 4953-6959.
- González-Toril, E., Aguilera, A., Rodríguez, N., Fernández-Remolar, D., Gómez, F., Diaz, E., García-Moyano, A., Sanz, J. L. y Amils, R. (2010). Microbial ecology of Río Tinto, a natural extreme acidic environment of biohydrometallurgical interest. *Hydrometallurgy*, 104, 329-333.
- Krulwich, T. A., Sachs, G. y Padan, E. (2011). Molecular aspects of bacterial pH sensing and homeostasis. *Nature Review Microbiology*, 9, 330-343.
- López-Archilla A., Marín, I. y Amils, R. (2001). Microbial Community Composition and Ecology of an Acidic Aquatic Environment: The Tinto River, Spain. *Microbial Ecology*, 41, 20-35.
- López-Archilla, A., González, A. E., Terrón, M. C. y Amils, R. (2005). Diversity and ecological relationships of the fungal populations of an acidic river of Southwestern Spain: the Tinto River. *Canadian Journal of Microbiology*, 50, 923-934.
- Malki, M., González-Toril, E., Sanz, J. L., Gómez, F., Rodríguez, N. y Amils, R. (2006). Importance of the iron cycle in biohydrometallurgy. *Hydrometallurgy*, 83, 223-228.

- Navarro, C. A., von Bernath, D. y Jerez, C. A. (2013). Heavy metal resistance strategies of acidophilic bacteria and their acquisition: importance for biomining and bioremediation. *Biological Research*, 46, 363-371.
- Nuñez, H., Covarrubias P. C., Moya-Beltrán, A., Issotta, F., Atavales, J., Acuña, L. G., Johnson, D. B. y Quatrone, R. (2016). Detection, identification and typing of *Acidithiobacillus* species and strains: a review. *Research in Microbiology*, 167, 555-567.
- Puente-Sánchez, F., Moreno-Paz, M., Rivas, L. A., Cruz-Gil, P., García-Villadangos, M., Gómez, M. J., Postigo, M., Garrido, P., González-Toril, E., Briones, C., Fernández-Remolar, D., Stoker, C., Amils, R. y Parro, V. (2014). Deep subsurface sulfate reduction and methanogenesis in the Iberian Pyrite Belt revealed through geochemistry and molecular biomarkers. *Geobiology*, 12, 34-47.
- Sánchez-Andrea, I., Rodríguez, N., Amils, R. y Sanz, J. L. (2011). Microbial diversity in anaerobic sediments at Río Tinto, a naturally acidic environment with a high heavy metal content. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 6085-6093.